

UNIVERSIDAD CENTRAL DEL ECUADOR  
FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA  
CARRERA DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA

DETERMINACIÓN DE LA PRESENCIA DE ANTICUERPOS ANTI-  
*TRYPANOSOMA CRUZI* EN CANINOS EN ZONAS ENDÉMICAS PARA  
ENFERMEDAD DE CHAGAS DE LA PROVINCIA DEL GUAYAS:  
CANTON GENERAL VILLAMIL PLAYAS-POSORJA.

Proyecto de Trabajo de Grado presentado como requisito parcial para  
optar el Grado o Título de MEDICO VETERINARIO Y ZOOTECNISTA

AUTORES:

CHRISTIAN JOSÉ GIRALDO ORDÓÑEZ

MARÍA JOSÉ TAMAYO NUÑEZ

TUTOR

DR. RICAR RODRIGUEZ

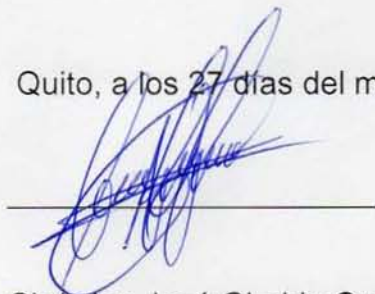
QUITO, 11 DE DICIEMBRE DEL 2012

## AUTORIZACIÓN DEL AUTORÍA INTELECTUAL

Nosotros, Christian José Giraldo Ordóñez y María José Tamayo Núñez en calidad de autores del trabajo de tesis realizado sobre " Determinación de la presencia de anticuerpos anti-*Trypanozoma cruzi* en caninos en zonas endémicas para Enfermedad de Chagas de la provincia del guayas: Cantón General Villamil Playas-Posorja", por la presente autorizo a la UNIVERSIDAD CENTRAL DEL ECUADOR, hacer uso de todos los contenidos que nos pertenecen o de parte de los que contienen esta obra, con fines estrictamente académicos o de investigación.

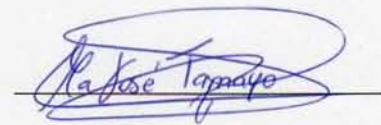
Los derechos que como autores nos corresponden, con excepción de la presente autorización, seguirán vigentes a mi favor, de conformidad con lo establecido en los Artículos 5, 6,8; 19 y demás pertinentes de la ley de Propiedad Intelectual y su Reglamento.

Quito, a los 27 días del mes de Diciembre del 2012.



Christian José Giraldo Ordóñez

argalord361@hotmail.com



María José Tamayo Núñez

drtamayo02@gmail.com

## INFORME DEL TUTOR

En mi carácter de Tutor del Trabajo de Grado, presentado por el señor Christian José Giraldo Ordóñez y María José Tamayo Núñez, para optar en el título o grado de Médico Veterinario y Zootecnista, cuyo título es "Determinación de la presencia de anticuerpos Anti-*Trypanosoma cruzi* en caninos en zonas endémicas de la Provincia de Guayas: Playas Villamil-Posorja ". Considero que dicho trabajo reúne los requisitos y méritos suficientes para ser sometido a la presentación pública y evaluación por parte del jurado examinador que se designe.

En la ciudad de Quito a los 20 del mes de Abril del 2012.



Richar Rodriguez Ph.D

CI N° 1712051786

## APROBACIÓN DEL TRABAJO / TRIBUNAL

“Determinación de la presencia de anticuerpos anti- *Trypanosoma cruzi* en caninos en zonas endémicas para enfermedad de Chagas de la provincia del Guayas: Cantón General Villamil Playas-Posorja”.

El tribunal constituido por:

Dr. Gilberto Villacis E, (PRESIDENTE); Dr. Cesar Obando B. (VOCAL PRINCIPAL); Dr. Julio Soria V. (VOCAL PRINCIPAL); Dr. Richard Rodríguez H. (DIRECTOR DE TESIS).

Luego de receptar la presentación del trabajo previo a la obtención del título o grado de MEDICO VETERINARIO Y ZOOTECNISTA presentado por los señores, Christian José Giraldo Ordóñez y María José Tamayo Núñez.

Con el titulo “Determinación de la presencia de anticuerpos anti- *Trypanosoma cruzi* en caninos en zonas endémicas para enfermedad de Chagas de la provincia del Guayas: Cantón General Villamil Playas-Posorja”.

Ha emitido el siguiente veredicto, cumplidos los requisitos reglamentarios y una vez efectuada la defensa de Tesis, se concluye con la aprobación de la defensa de tesis, presentada por los señores Christian José Giraldo Ordóñez y María José Tamayo Núñez.

w

Fecha: Martes, 11 de Diciembre del 2012.

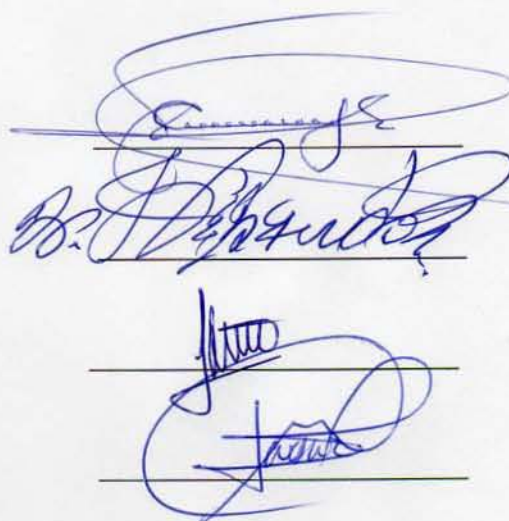
Para constancia de lo actuado.

Dr. Gilberto Villacis (PRESIDENTE)

Dr. Cesar Obando (VOCAL PRINCIPAL)

Dr. Julio Soria (VOCAL PRINCIPAL)

Dr. Richar Rodríguez (TUTOR)



## DEDICATORIA

A los Cantones de Playas y Posorja de la Provincia del Guayas,

Pilar fundamental para la presente investigación, y

Al avance del estudio de la Enfermedad de Chagas en el Ecuador.

## RECONOCIMIENTOS

Al finalizar un trabajo tan arduo y lleno de dificultades como el desarrollo de una tesis profesional es inevitable que te asalte un muy humano egocentrismo que te lleva a concentrar la mayor parte del mérito en el aporte que has hecho. Sin embargo, el análisis objetivo te muestra inmediatamente que la magnitud de ese aporte hubiese sido imposible sin la participación de personas e instituciones que han facilitado las cosas para que este trabajo llegue a un feliz término. Por ello, es para mí un verdadero placer utilizar este espacio para ser justo y consecuente con ellas, expresándoles mis agradecimientos.

Debo agradecer de manera especial y sincera al Dr. Richar Rodríguez y la Dra. Margarita Medina por aceptar emprender la dirección de esta investigación para realizar la presente tesis doctoral. Su apoyo y confianza en el presente trabajo y su capacidad para guiar ideas ha sido un aporte invaluable, no solamente en el desarrollo de esta tesis, sino también en nuestra formación profesional.

Agradezco al Dr. Ángel Guevara, MSc, Ph.D, Docente-investigador, de la Facultad de Medicina, Centro de Biomedicina. Universidad Central del Ecuador, por permitirnos participar en el proyecto emprendido por el Servicio Nacional de Control de Enfermedades transmitidas por vectores artrópodos (SNEM).

Al Dr. José Prado Garcés, Coordinador Nacional del Programa de Chagas. SNEM, Ministerio de Salud Pública y al Dr. Leonardo Quinde, Entomólogo del Programa Nacional de Chagas. SNEM, Ministerio de

Salud Pública, por su amabilidad, disponibilidad y paciencia durante la investigación realizada.

Quiero expresar también mi más sincero agradecimiento al Servicio Nacional de Enfermedades transmitidas por vectores artrópodos (SNEM), y al Ministerio de Salud Pública, por su importante aporte y participación activa en el desarrollo de esta tesis.

No cabe duda que su participación ha enriquecido el trabajo realizado y además, ha significado el surgimiento de una sólida amistad.



## CONTENIDO

UNIVERSIDAD CENTRAL DEL ECUADOR	I
DEDICATORIA	VI
RECONOCIMIENTOS	VII
ÍNDICE DE GRÁFICOS	XI
RESUMEN	XII
SUMMARY	XIII
INTRODUCCIÓN	1
CAPITULO I	3
EL PROBLEMA	3
<i>PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA</i>	3
<i>JUSTIFICACIÓN</i>	5
CAPÍTULO II	7
MARCO TEÓRICO	7
<i>ANTECEDENTES DE LA INVESTIGACIÓN</i>	7
<i>FUNDAMENTACIÓN TEÓRICA</i>	8
<i>Etiología</i>	11
<i>Transmisión Vectorial</i>	12
<i>Gráfico 3. Riesgo de transmisión vectorial de la enfermedad de Chagas en el Ecuador</i>	13
<i>Ciclo de Vida Trypanosoma cruzi</i>	13
<i>Hallazgos Clínicos</i>	16
<i>Diagnóstico mediante laboratorio</i>	17
<i>Consideraciones de Salud Pública</i>	18
<i>DEFINICIÓN DE TÉRMINOS BÁSICOS</i>	21
METODOLOGÍA	23
<i>MÉTODOS</i>	23
<i>Área de Estudio</i>	24

<i>Ubicación de Aspectos Ambientales</i>	24
<i>DISEÑO DE LA INVESTIGACIÓN</i>	26
<i>POBLACIÓN Y MUESTRA</i>	30
<i>COMPROBACIÓN DE LA HIPÓTESIS</i>	31
<i>TÉCNICAS E INSTRUMENTOS DE LA INVESTIGACIÓN</i>	32
<i>Protocolos de diagnóstico</i>	33
<i>ELISA</i>	33
<i>Test Rápido (In Bios)</i>	34
<i>VALIDEZ Y CONFIABILIDAD DE LOS INSTRUMENTOS</i>	35
<i>TÉCNICAS DE PROCESAMIENTO Y ANÁLISIS DE DATOS</i>	35
RESULTADOS	37
<i>PRESENTACIÓN DE RESULTADOS</i>	37
<i>Gráfico 9. Comparación de Tasas de Infección en las diferentes especies</i>	41
<i>ANÁLISIS E INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS</i>	42
<i>Gráfico 10. Resultados de General Villamil Playas (Croquis)</i>	45
<i>Fuente: Investigación directa</i>	45
<i>Elaborado: Los autores.</i>	45
CAPITULO V	50
CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	50
<i>CONCLUSIONES</i>	50
<i>RECOMENDACIONES</i>	51
CAPITULO VI	52
REFERENCIAS	52
ANEXOS	59
CUADRO 1	59
<i>Muestras positivas del cantón "Playas Villamil".</i>	59

Índice de Gráficos	pp
1. Relación Epidemiológica – Enfermedad de Chagas .....	9
2. Fotografía Microscópica De T. cruzi .....	11
3. Riesgo de Transmisión de la enfermedad de Chagas en el Ecuador ..	13
4. Ciclo de Vida de T. cruzi .....	15
5. Mapa de General Villamil Playas - Posorja .....	26
6. Resultados General Villamil Playas y Posorja .....	38
7. Resultados de General Villamil Playas .....	38
8. Resultados de Posorja .....	39
9. Comparación De Tasas De Infección En Las Diferentes Especies.....	39
10.Resultados de General Playas Villamil (Croquis).....	43
11.Resultados de Posorja (Croquis) .....	44

UNIVERSIDAD CENTRAL DEL ECUADOR  
FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA  
DETERMINACIÓN DE LA PRESENCIA DE ANTICUERPOS ANTI-  
*TRIPANOSOMA CRUZI* EN CANINOS EN ZONAS ENDÉMICAS PARA  
ENFERMEDAD DE CHAGAS DE LA PROVINCIA DEL GUAYAS: CANTON  
GENERAL VILLAMIL PLAYAS-POSORJA.

AUTORES: CHRISTIAN JOSÉ GIRALDO ORDÓÑEZ  
MARÍA JOSÉ TAMAYO NUÑEZ  
TUTOR: RICAR RODRIGUEZ  
QUITO, 20 DE ABRIL DEL 2012

RESUMEN

La enfermedad de Chagas, causada por el *Trypanosoma cruzi*, afecta a la especie humana, la misma que es transmitida por vectores. Se ha considerado al canino como parte importante en la transmisión de la enfermedad. Es por esto que se evaluó la dinámica de transmisión a través de la presencia de anticuerpos anti *Trypanosoma cruzi* en caninos, en los cantones de Playas Villamil y Posorja de la Provincia de Guayas, utilizando un estudio epidemiológico dirigido a caninos de manzanas diagnosticadas como positivas a la presencia del insecto vector y a la enfermedad en los humanos. La población de estudio fue de 200 caninos, de los cuales se extrajo una muestra de sangre, mismas que fueron analizadas a través de un kit de detección *Trypanosoma* Detect Rapid Test. De las 200 muestras se escogieron 133, que fueron confirmadas con Elisa, Inmunofluorescencia Indirecta (IFI) y el test rápido (In Bios). Los resultados muestran una seroprevalencia de anticuerpos anti-*T. cruzi* en caninos domésticos de 11,3% (15/133). Con lo cual se puede inferir que los caninos desempeñan un rol importante como barrera natural de la Enfermedad de Chagas tanto domiciliar como peridomiciliar por el amplio contacto, aunados con los factores socioeconómicos y culturales.

Palabras claves: Enfermedad de Chagas, *Trypanosoma cruzi*, dinámica de transmisión, seroprevalencia.

## SUMMARY

Chagas disease, caused by *Trypanosoma cruzi*, affects the human species, it is transmitted by vectors. Canine has been considered as an important part in transmitting this disease. That is the reason why it was evaluated the dynamics of transmission over the presence of *Trypanosoma cruzi* antibodies in dogs, in the towns of Playas Villamil and Posorja of Guayas Province, using an epidemiological study whose objective was dogs from neighborhoods diagnosed as positive for the presence of the vector bug. The study population was 200 canines, which were taken a blood sample, then were analyzed by *Trypanosoma* kit Rapid Detect Test. Of the 200 samples were selected 133 that were confirmed with ELISA, indirect immunofluorescence (IIF) and the rapid test (in BIOS). The results show a seroprevalence of anti-*T. cruzi* in domestic canines of 11.3% (15/133). This led to the conclusion that canines play an important role as a natural barrier of Chagas Disease both outdoors and indoors caused by the extensive contact, coupled with economic and cultural factors.

Keywords: Chagas disease, *Trypanosoma cruzi*, transmission dynamic, seroprevalence.

## INTRODUCCIÓN

La enfermedad de Chagas (EC) es uno de los problemas de Salud Pública de mayor presentación en América Latina, asociado a factores socioeconómicos y socioculturales deficitarios que presentan sus habitantes, son algunos de los aspectos que predisponen la presencia de enfermedad.

La infección por *Trypanosoma cruzi*, agente causal de la enfermedad de Chagas, desde su descubrimiento hace más de 100 años, y luego de innumerables estudios epidemiológicos para entender la dinámica de transmisión de la enfermedad, se ha resaltado el papel que juegan los caninos como reservorios y centinelas en la cadena de transmisión de la enfermedad, constituyéndose en un problema inherentemente ecológico y relacionado directamente con la pobreza (Abad-Franch, 2001).

La importancia de determinar la influencia que tienen los caninos en la transmisión del *Trypanosoma cruzi*, y como centinelas naturales en áreas riesgo y de control de vectores, permitieron reportar datos más reales de esta zoonosis los cuales son presentados en el presente trabajo de investigación.

La Enfermedad de Chagas conlleva diferentes interacciones reservorio-parásito que la convierte en un sistema complejo en la medida en que incluye al ser humano y/o canino, el parásito, el vector y los mamíferos silvestres en el marco de un ambiente biofísico, social, político y económico determinado. Dichos actores se encuentran dentro de un específico ambiente y en conjunto forman una unidad biológica, un sistema único y dinámico que puede manifestar cambios en función de las alteraciones del medio ambiente y la variación de la abundancia de ellos (Leloir, 2010).

Los caninos actúan como indicadores de la infección chagásica en ambientes domiciliarios y/o peri domiciliarios, tienden a ser más propensos a las picaduras de *T. cruzi* que los seres humanos, aunado a que puede desplazarse de un lugar a otro dentro en la misma localidad, por lo que se los utiliza como centinelas de la enfermedad en los hogares que habitan (Portugal-García, 2011).

## CAPITULO I

### EL PROBLEMA

#### PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

La Enfermedad de Chagas constituye una amenaza permanente para casi la cuarta parte de la población de América Latina, constituyendo una endemia con predominio en áreas rurales de bajo estrato social directamente relacionado con pobreza e insalubridad, estableciendo un hábitat adecuado para los triatóminos vectores (Barquisimeto, 2005).

Las zonas rurales son afectadas principalmente, donde las condiciones ambientales aunadas a las tradicionales culturas de los habitantes y las precarias condiciones socioeconómicas favorecen a que el vector (*T. dimidiata*) conviva en las viviendas con los humanos y reservorios domésticos; propiciando la continuidad de esta endemia (Barquisimeto, 2005).

Durante más de cien años del descubrimiento de la enfermedad, la estrecha convivencia de humanos con caninos, ha hecho que se relacione a los caninos como reservorios en la cadena de transmisión de la Enfermedad de Chagas, despertando el interés que permite identificar



qué es lo que se ha modificado y cuál es la realidad actual de la enfermedad; y dentro de lo cual permite analizar que los hábitos caninos facilitan el acceso de los Triatóminos (chinchas) y consecuentemente sus picaduras (Mordini, 2009).

Se han descrito más de cien especies de mamíferos que actúan como reservorios, pertenecientes a ocho diferentes órdenes incluyendo al hombre, animales sinantrópicos como la zarigüeya (*Didelphis marsupialis*), animales silvestres como el armadillo (*Dasypus novemcinctus*), así como animales domésticos como el perro (*Cannis familiaris*), los cuales fueron estudiados por su influencia y papel que juegan al estar en estrecho contacto con el humano y el vector, además de caracterizarse por su movilidad amplia de un lugar a otro con facilidad, factor que predispone aún más el contagio (García, 2011). La sangre del canino a más de ser una fuente de alimento para el vector, es un hospedador sensible que permite estudiar el status activo de la transmisión de la enfermedad de Chagas en las comunidades. No hay duda que el canino influye como reservorio, pero debemos acotar que los factores de riesgo predisponen a que se presenten casos en estas zonas positivas, en donde se destaca el clima, permitiendo un amplio desarrollo del vector, y la propagación de la enfermedad.

## JUSTIFICACIÓN

La enfermedad de Chagas al ser un problema de Salud Pública y considerada por la OMS como una de las 13 enfermedades tropicales más desatendidas del mundo y por la OPS como enfermedad de la pobreza, ocupa la cuarta causa de muerte en América Latina, constituyendo un problema relevante social y económico en muchos países de América Latina( Lennox, 2007).

En el Ecuador, la enfermedad de Chagas es una de las enfermedades más prevalentes, alcanzando el 30% (Larreategui, 2011), razón por la cual los programas de control se basan en la eliminación de vectores domiciliarios y en el tamizaje serológico de donaciones a bancos de sangre, con estas medidas se ha logrado interrumpir la transmisión en algunos países de América del Sur.

La importancia de determinar la influencia que tienen los caninos como reservorios en la cadena de transmisión del *Trypanosoma cruzi*, llevó a proponer este tema de interés social, que aporta a sumar conocimientos y en gran escala a apoyar la erradicación del “Mal de Chagas” en zonas donde existen altos casos de personas sero-positivas a la enfermedad.

El enfoque del análisis de la cadena de transmisión de la enfermedad y el nivel de influencia de los caninos como reservorios hábiles proyecta resultados más reales, ampliando conocimientos y ayudando a establecer programas de control de importancia para la Salud Pública.

Al analizar todos los factores que establecen la presencia del “Mal Chagas”, y al ampliar los conocimientos ya obtenidos, se podrán sustentar medidas de control y erradicación para contrarrestar los efectos que producen esta enfermedad” y en el mejor de los casos apoyar la erradicación de la misma.

Es por esto que, la investigación tuvo como objeto determinar la presencia de anticuerpos anti-*Trypanosoma cruzi* en caninos en zonas endémicas de la Provincia del Guayas: Playas Villamil – Posorja, analizando la influencia que tienen los caninos como actores en la cadena de transmisión de la enfermedad en zonas donde la enfermedad presenta mayor prevalencia en humanos y se ha evidenciado la presencia potencial de sus vectores y reservorios.

## CAPÍTULO II

### MARCO TEÓRICO

#### ANTECEDENTES DE LA INVESTIGACIÓN

En Ecuador, los focos de transmisión de *T. cruzi* mejor caracterizados se localizan en las Provincias litorales de Guayas, El Oro, Manabí y los Ríos; en las interandinas de Loja y Azuay; y en las Amazónicas de Sucumbíos, Napo, Orellana y, en menor medida, Pastaza, Morona Santiago y Zamora Chinchipe (Abad-Frach, 2002).

En America, se han realizado varios estudios en Argentina que han determinado la seropositividad para infección chagásica en caninos, encontrándose en Córdoba el 11,11% (10/90) de seropresencia en caninos (Acha, 2003).

Estudios en Costa Rica de seropositividad por *Trypanosoma cruzi* en perros callejeros y mascota, encontraron un 5,2% en zonas endémicas; mientras que, en zonas no endémicas fue de 1,6%. En perros callejeros el porcentaje de positividad fue de 12% independiente de si fueron capturados en zonas endémicas o no endémicas (Reyes, 2002).

Por otro lado, en un estudio realizado en caninos de dos localidades urbanas de México (Morelos y Puebla) se reportó una seroprevalencia de 8.8% y 24.2% respectivamente; datos similares han sido reportados en perros de áreas urbanas y rurales del estado de Yucatán, donde la seroprevalencia fue de 9.8% en áreas rurales y de 14.4% en zonas urbanas (García, 2011).

## FUNDAMENTACIÓN TEÓRICA

En Latinoamérica y el Caribe más de 78 millones de personas viven en condiciones rurales de pobreza, con 48 millones de ellos viviendo en extrema pobreza (Gold, 2007). El Mal de Chagas se inició como una enfermedad huérfana de poblaciones pobres, rurales y olvidadas en América Latina, sin embargo, la OPS ha indicado que es endémica en un total de 22 países (OPS, 2010).

Una de las razones que nos impide controlar los efectos de la Enfermedad de Chagas es su compleja interacción con el ambiente que se refleja en los ciclos de transmisión, las características biológicas, y extrema complejidad epidemiológica incluyendo la inestabilidad política de la región, han impedido que se logre el objetivo (Ocaña – Mayorga, 2010). Para que la Enfermedad de Chagas pueda ocurrir es necesario la intervención de tres actores importantes, como el parásito *Trypanosoma*

*cruzi*, sus vectores y reservorios (canino) y el ser humano, aunado a condiciones ambientales y sociales que permitan que estos tres factores puedan encontrarse en un mismo momento y en determinado espacio (Briceño 2009).



Grafico 1. Relación Epidemiológica – Enfermedad de Chagas

Fuente: Investigación directa

Elaboración: Los autores.

La transmisión de la Enfermedad de Chagas se ha definido en tres ciclos: domiciliar, peridomiciliar y silvestre, que se basa en las asociaciones de circulación de los parásitos entre hospederos (vectores y reservorios) en áreas definidas por la actividad humana (Ocaña, 2011). El proceso de transmisión de la enfermedad de Chagas ha estado históricamente relacionado con los patrones de ocupación territorial de los asentamientos humanos, en las áreas rurales puede ocurrir más fácilmente el encuentro

del vector, los agentes patógenos y los seres humanos, por las condiciones de la vivienda y la pobreza existente en estas zonas (Briceño, 2009).

Las especies de hospedadores, poseen una enorme plasticidad, están ampliamente distribuidos en todas las regiones fitogeográficas del neotrópico.

En cada bioma de Latinoamérica, y en cada hábitat en particular, podemos encontrar diferentes especies de mamíferos sustentando diferentes ciclos de transmisión que pueden estar aislados o conectados. Ese carácter es particular y único para cada determinada localidad. De esta forma, la enfermedad de Chagas posee un carácter zoonótico complejo.

El papel que cada especie de hospedador desempeña en la dispersión y/o mantenimiento del parásito también puede ser extremadamente inconstante debido a la complejidad de los procesos e interrelaciones ecológicas y presión del hombre en modificar cada vez más los ambientes (Cruz, 2009).

Se pretende destacar las especies de mamíferos domésticos, entre ellas el canino, los cuales se encuentran naturalmente infectados por el *T. cruzi* y pueden, bajo determinadas circunstancias ambientales y sociales, convertirse en potenciales reservorios de la infección (Cruz, 2009).

### *Etiología*

*Trypanosoma cruzi* es un protozooario hemoflagelado, parásito de los mamíferos y transmitido por contaminación con las heces de insectos vectores (Triatominae) infectados. Presenta un ciclo vital complejo en el que pueden diferenciarse cuatro estadios morfológicos: (a) *Epimastigotes*: Formas replicativas en el intestino medio de los vectores (chinchas hematófagas pertenecientes a la familia Reduviidae, subfamilia Triatominae); (b) *Trypomastigotes meta cíclicos*: Formas infectantes no replicativas en el intestino posterior del vector; (c) *Trypomastigotes circulantes* en sangre periférica de los huéspedes mamíferos: Formas extracelulares, no replicativas, que son ingeridas por los insectos al alimentarse de sangre; (d) *Amastigotes*: Formas intracelulares replicativas presentes en varios tejidos de los huéspedes (OPS/OMS, 2003).

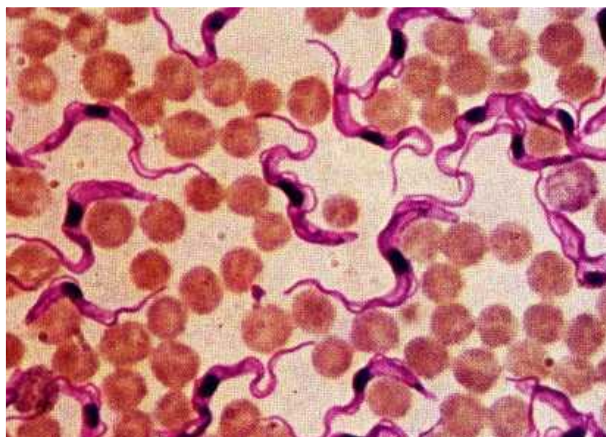


Gráfico 2. Fotografía Microscopica de T. cruzi

Fuente: Wikimedia Commons.

Elaboración: Zingales, B



### *Transmisión Vectorial*

La transmisión vectorial es la infección con mayor porcentaje (80%) de contagio por insectos hematófagos obligatorios de la subfamilia *Triatominae*. El vector más importante de la enfermedad de Chagas en Ecuador es *Triatoma dimidiata*, predominantemente en las Provincias de Guayas y Manabí, aunque se ha encontrado en todas las Provincias de la Costa, es exclusivamente doméstico y peridoméstico, por lo que puede ser erradicado; el *Rhodnius ecuadoriensis* actúa como vector primario en los valles interandinos de Loja y El Oro, y como vector secundario en zonas de la Costa donde existen poblaciones silvestres (OPS/OMS, 2003).

Existe unanimidad entre los expertos al considerar a *T. dimidiata* como el principal vector doméstico en Ecuador, además la relación a otras especies como *R. ecuadoriensis*, *Triatoma carrioni*, *Panstrongylus rufotuberculatus* y *Panstrongylus chinai* que también, han sido señalados como transmisores de la enfermedad en diversas áreas de los focos andinos y del litoral; se considera que *Rhodnius pictipes* y *Rhodnius robustus* son vectores importantes en la región Amazónica, con alguna participación de *Panstrongylus geniculatus* (Abad-Franch, 2003).

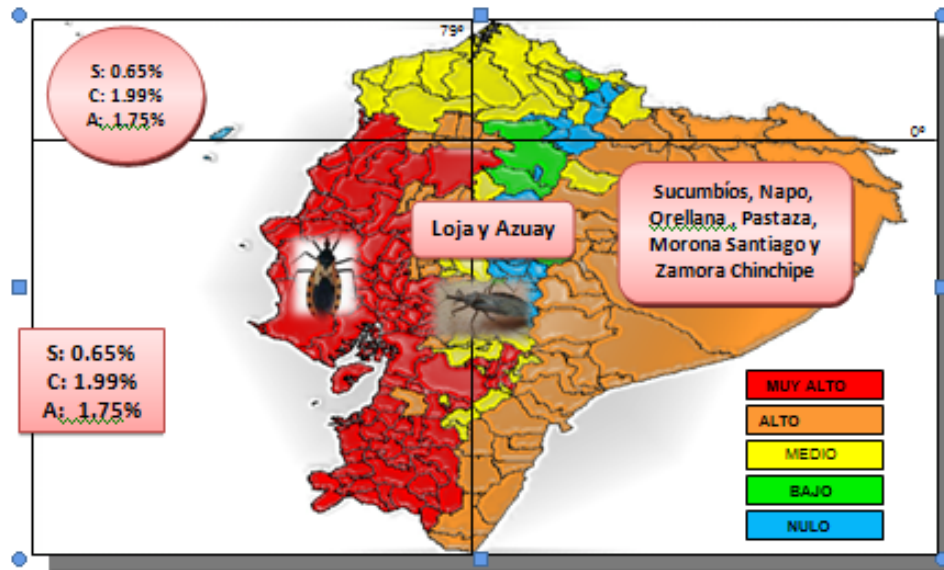


Gráfico 3. Riesgo de transmisión vectorial de la enfermedad de Chagas en el Ecuador

#### *Ciclo de Vida Trypanosoma cruzi*

El ciclo de vida de *T. cruzi* requiere normalmente de dos huéspedes: un insecto capaz de producir formas metacíclicas y un mamífero (canino u otro). La susceptibilidad a la infección ha sido demostrada en más de 180 especies o subespecies de mamíferos y más de 100 especies de triatóminos. Entre los huéspedes mamíferos, los principales reservorios en zonas habitadas son perros, gatos, cabras, cerdos, cobayas, conejos, zarigüeyas, ratas, ratones y armadillos, destacando los caninos por el estrecho contacto con el humano (OPS/OMS, 2003).

Las zarigüeyas (*Didelphis* spp.) y algunos roedores (*Rattus* spp., *Mus musculus*) y armadillos (*Dasypus* spp.) son los principales reservorios silvestres. La enfermedad se extiende al ambiente domiciliario y peridomiciliario afectando humanos y animales domésticos (Abad-Franch et al, 2000).

El insecto vector por su característica de hematófagos obligatorios, se infecta al ingerir sangre de los mamíferos con tripomastigotes.

En el lumen del intestino medio del insecto, los parásitos se multiplican muy activamente como epimastigotos fisión binaria y, al cabo de quince a treinta días, se desarrollan los tripomastigotes metacíclicos formas infectantes no replicativas en el intestino posterior del triatoma.

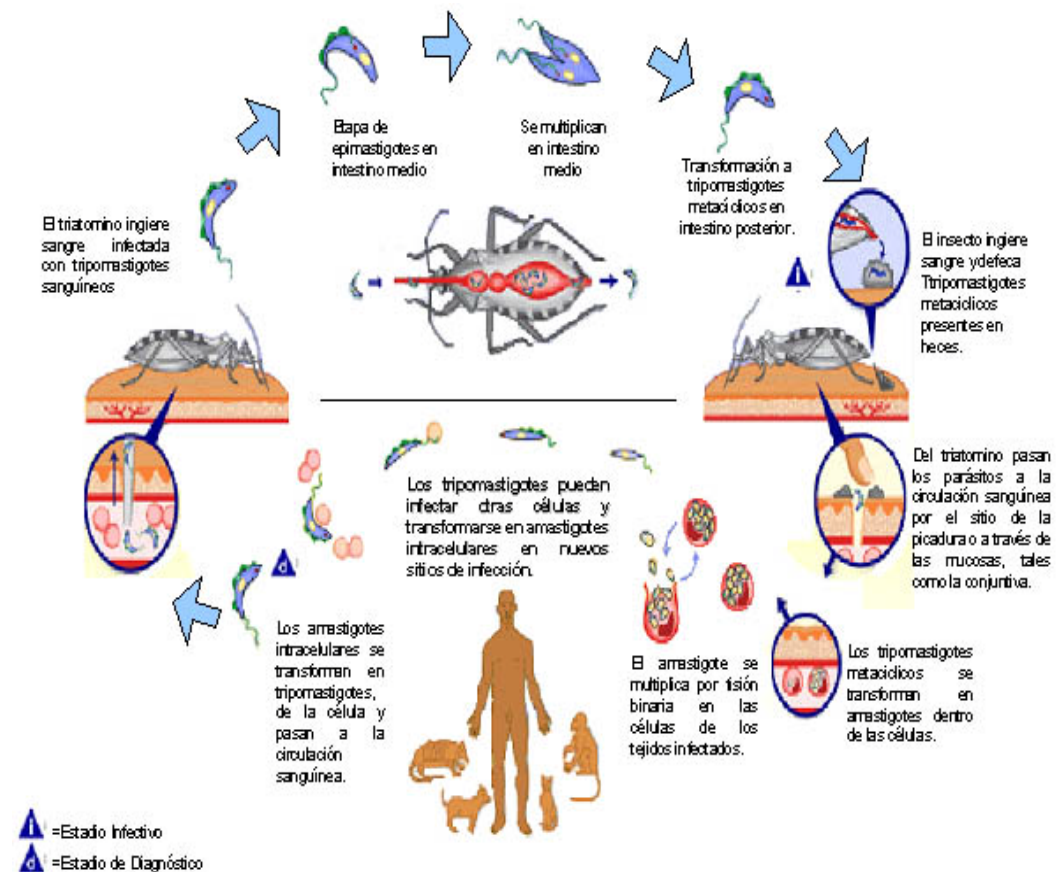


Grafico 4. Ciclo vital de *Trypanosoma cruzi*.

Fuente: Manual de laboratorio para el diagnóstico de la infección por *Trypanosoma cruzi*, 2002.

Cuando el insecto infectado pica al mamífero, y emite deyecciones con Tripomastigotes, que atraviesan la piel por el sitio de la picadura o por las mucosas; los Tripomastigotes se introducen en las células del tejido celular laxo, vecino al sitio de la penetración, adquieren la forma de Amastigotes formas intracelulares replicativas presentes en varios tejidos de los huéspedes. Los Amastigotes se multiplican por fisión binaria, repletan la célula, que termina por romperse y salen los parásitos a la

circulación bajo el aspecto de Tripomastigotes circulantes en sangre periférica de los huéspedes mamíferos; formas extracelulares, no replicativas. El ciclo se completa cuando los Tripomastigotes son ingeridos por el insecto vector (Noireau, 1999; Franch y Aguilar, 2000).

### *Hallazgos Clínicos*

Los caninos clínicamente afectados desarrollan la enfermedad aguda o crónica. La enfermedad aguda ocurre principalmente en caninos menores de un año, de forma repentina, con signos que indican insuficiencia cardíaca derecha y arritmias cardíacas. La linfadenomegalia puede suceder y se presenta invariablemente durante la enfermedad aguda. Signos compatibles con miocarditis aguda, tales como colapso súbito y muerte de perros jóvenes previamente normales, mucosas pálidas, tiempo de llenado capilar disminuido, pulso débil, taquiarritmias, e hipotermia terminal con depresión respiratoria son comunes. Muchos caninos infectados que no mueren repentinamente desarrollan Ascitis, Hepatomegalia, y Esplenomegalia causada por la Insuficiencia cardíaca derecha. Anorexia y diarrea son comunes durante la fase aguda. Signos neurológicos tales como meningoencefalitis, ataxia de miembros posteriores, debilidad profunda, e hiperestesia, sugerentes de un cuadro

infeccioso de Distemper, se han observado en canes infectados natural y experimentalmente (Berger, 1991).

Los sobrevivientes de la fase miocárdica aguda se vuelven no parasitémicos y asintomáticos, y desarrollan miocarditis crónica con dilatación cardíaca en los próximos 8 a 36 meses. La muerte súbita en esta fase puede ocurrir y se piensa que es causada por las arritmias cardíacas. Caninos diagnosticados en edades más avanzadas (9 años) sobrevivieron 30 a 60 meses; mientras que, los que fueron diagnosticados a edades más tempranas (4,5 años promedio), sobrevivieron después de 5 meses del diagnóstico. La Tripanosomiasis debe ser considerada en cualquier perro con signos de miocarditis o cardiomiopatías (Berger, 1991).

#### *Diagnóstico mediante laboratorio*

La prueba de Inmunofluorescencia indirecta (FI), ELISA, y las pruebas de Radioinmunoprecipitación son las más usadas. Estas pruebas detectan la presencia de anticuerpos para *T. cruzi* aunque, se ha evidenciado reacción cruzada para anticuerpos de Leishmania, pero lo cual, los resultados positivos deben confirmarse con pruebas específicas para Leishmania en zonas donde los dos parásitos co-habitan. Por otro lado,

las pruebas de biología molecular, en las que se incluye al PCR (reacción en cadena de la polimerasa) con alta especificidad y sensibilidad para *T. cruzi* (Salomone, 2003), han sido utilizadas en estudios epidemiológicos en zonas donde el parásito es endémico. El hemocultivo y el serodiagnóstico son considerados pruebas “Gold Standard” para el diagnóstico parasitológico de la infección por *T. cruzi* (Greene, 2006 *cid*). Aunque estas técnicas son específicas, en la fase crónica de la infección sus sensibilidades son altamente variables, su realización consume tiempo y recursos económicos. Así una prueba rápida, sensible y específica para realizar screening en la población en lugares donde se realiza campañas de vigilancia epidemiológica es mucho más valiosa, los resultados pueden ser leídos inmediatamente y las medidas de control se pueden implementar *in situ*.

### *Consideraciones de Salud Pública*

Entre 165.000 y 170.000 personas son seropositivas en Ecuador (Guevara, 2003), el 80 – 90% de los nuevos casos de infección humana por *Trypanosoma cruzi* son atribuidos a la transmisión vectorial, siete de las quince especies que tenemos en el Ecuador están probablemente involucradas en la transmisión del *T. cruzi* (Abad-Franch, 2002), en

diferentes partes del país. Algunos factores son responsables para la prevalencia de la Enfermedad de Chagas. Hay que destacar que las variedades de insectos vectores se alimentan y defecan al mismo tiempo, lo que no sucede con las variedades norteamericanas, ya que el contacto con las heces es el modo usual para el contagio en humanos, y la principal causa de la presencia y prevalencia de la enfermedad. La densidad de triatóminos infectados en las viviendas es alta en varias áreas de América del Sur. Por estas tasas, el riesgo de contagio por donaciones sanguíneas de áreas afectadas o de personas que viven en ellas es alto.

La enfermedad de Chagas en caninos y en hospedadores salvajes es de gran significancia para la Salud Pública por la severidad y la dificultad de tratar la enfermedad en las personas. Los canes que habitan en predios con personas en áreas endémicas sirven como reservorios para especies de insectos que se consideran vectores zoonóticos. Los caninos diagnosticados con esta enfermedad son centinelas para la infección potencial humana y también para la infestación de insectos en los domicilios.

En el presente estudio se estableció como hipótesis que el Ecuador presenta una alta prevalencia del insecto transmisor principal y



secundario como se puede observar en la fundamentación teórica, la cual es esencial en la presentación de la patología humana y canina.

Así mismo en las áreas donde se ha comprobado la presencia de casos humanos e insectos portadores positivos, se ha comprobado la convivencia de animales de estima, por lo que aumenta la probabilidad de encontrar casos positivos caninos de la enfermedad de Chagas en la Provincia del Guayas, cantones Playas Villamil y Posorja.

Debido a que diversas especies animales son reservorios importantes de *T. cruzi*, entre ellos los caninos, pueden ser objetivo en estrategias de control de la Enfermedad de Chagas (como centinelas en programas de vigilancia epidemiológica), si los animales pueden ser identificados exactamente por medio de bases de datos.

Siendo la Provincia del Guayas una zona de alta presencia de triatóminos e incidencia de casos de Enfermedad de Chagas, los cantones son la primera opción para iniciar la investigación a nivel nacional.

La enfermedad de Chagas presenta múltiples factores de riesgo que predisponen a que se presente la enfermedad, presentándose un número de casos positivos en un punto del tiempo, describiendo eventos y circunstancias que se desarrollan en determinado momento, caracterizando a la prevalencia de la enfermedad. La población en estudio

son los caninos de zonas positivas los cuales están definidas por factores múltiples que determinan a dichas zonas como endémicas.

La presentación de la enfermedad, está determinada por la ecología de la enfermedad, es decir se analiza las diferentes características físicas, sociales y culturales de los cantones en estudio, los mismos que predisponen la presencia de la enfermedad en zonas de alta endemicidad, como son Playas y Posorja.

Un estudio epidemiológico analiza variables al mismo tiempo, y aún más cuando se realiza una investigación de campo, de tal forma que es difícil controlar todos los factores, por lo tanto y específicamente en este estudio se tomó como variable principal la presencia de caninos en hogares previamente analizados y confirmados para la presencia de *T. dimidiata*, el insecto transmisor.

## DEFINICIÓN DE TÉRMINOS BÁSICOS

Estudio epidemiológico: Procedimientos de análisis en los que se basa la investigación. La epidemiología se aplica para encontrar las causas que determinan la enfermedad o los factores de riesgo que hacen más probable a que se presente.

Neotrópico.- Es una ecozona de la Tierra que abarca Sudamérica, América Central, Caribe, Florida del Sur y la zona sur de México.

Screening.- Es un anglicismo utilizado para indicar una estrategia aplicada sobre una población para detectar una enfermedad en individuos sin signos o síntomas de esa enfermedad.

Zoonóticos.- Microorganismo cuyo reservorio es uno o varios animales; todo parásito, bacteria, virus u organismo que pueda provocar una zoonosis.

Incidencia.- Es el número de casos nuevos de una enfermedad en una población determinada y en un periodo determinado.

Fitogeografía.- Es una rama de la biogeografía responsable por estudiar el origen, distribución, adaptación y asociación de las plantas, de acuerdo con la localización geográfica y su evolución.

Sinantrópicos.- Se refiere a animales que viven en estrecha asociación con los seres humanos.

### CAPITULO III

#### METODOLOGÍA

#### MÉTODOS

En la investigación se utilizó el método analítico que incluye un análisis del tema y una conclusión específica. Del mismo modo se implementó el método Observativo directo y una investigación Epidemiológica transversal que fueron dirigidos a zonas endémicas, en la Provincia del Guayas: Playas Villamil y Posorja, a la presencia del *Trypanosoma cruzi* en caninos; donde la enfermedad presenta mayor incidencia en humanos; con el fin de determinar la prevalencia de la enfermedad en perros.

Del mismo modo, la investigación fue de tipo descriptiva, porque analizó los factores de riesgo que predisponen a la presencia de la enfermedad.

En total, se analizó 200 caninos procedentes de los cantones de General Villamil Playas y Posorja, que fueron muestreados en las viviendas ubicadas en manzanas positivas y viviendas aledañas, las cuales fueron seleccionadas mediante estudios previos realizados por el Servicio Nacional de Erradicación de la Malaria (SNEM).

La metodología usada fue validada con técnicas inmunológicas como ELISA, Inmunofluorescencia Indirecta (IFI) y el test rápido (In Bios), con sus respectivos controles negativos y positivos, para las muestras analizadas determinando la respuesta inmune humoral.

En la parte estadística se determinó la Prevalencia aparente, métodos no paramétricos para comparar los diferentes antígenos o derivados de antígenos usados.

La investigación de la Enfermedad de Chagas en Ecuador, se realizó en los laboratorios de la Unidad de Parasitología Molecular del Centro de Biomedicina de la Universidad Central del Ecuador

### *Área de Estudio*

#### *Ubicación de Aspectos Ambientales*

La zona en la cual se ejecutó la investigación se encuentra ubicada centralmente en la región Costa del País, en la Provincia de Guayas en la zona geográfica ubicada exactamente en el extremo sur de la Península de Santa Elena, en la parte oeste del Golfo de Guayaquil. (Ver Gráfico 1). Caracterizada por un clima seco, con una temperatura que oscila de 23 a 25 C, una precipitación de 500 mm de lluvia anual, su heliofania es de 906 horas anual de intensidad del sol. El paisaje se caracteriza por ser

una costa rectilínea abierta, expuesta al viento y a las olas (Sandra García, 2005).

La Parroquia General Villamil está conformado por los recintos, (Santa Isabel, La Planta, Los Angelitos, San Antonio, Barrio lindo, Altamira, La Dolorosa, La Merced, Santa Elena, Cruz Roja), y del cantón de Posorja ( 20 de Junio, San Francisco, 25 de Julio, La Represa, la Poza). Esta parroquia está ubicada al suroeste de la Provincia del Guayas a 96 kilómetros de la ciudad de Guayaquil, con una superficie de 279.90 Km<sup>2</sup>, cuenta con 14 kilómetros de playas siendo una de las más extensas de la costa del Pacífico Sur, está clasificada como bosque tropical seco y muy seco, con temperaturas que oscilan entre 23 °C (entre Mayo a Diciembre, época de verano) y 30 °C (entre Diciembre a Abril, época de invierno), con estaciones lluviosas definidas. La población del Cantón es de aproximadamente 31.000 habitantes.



Gráfico 5. Mapa de General Villamil Playas – Posorja (Guayas).

Fuente: Playas Villamil- Posorja

Elaboración: Ecostravel, 2011.

## DISEÑO DE LA INVESTIGACIÓN

Se realizó un estudio descriptivo de corte transversal de seroprevalencia a *T. cruzi* y su asociación a factores de riesgo, durante 3 meses en los cantones de Playas y Posorja, Provincia del Guayas, dichos cantones son netamente rurales y ecológicamente se caracterizan por una costa rectilínea abierta.

El diseño de la investigación está de acuerdo con las modalidades de la investigación (de campo, documental-bibliográfica y experimental) y

dentro de las cuales se presenta como una investigación “*de campo*”, ya que se estudió los hechos en el lugar en el que se producen los acontecimientos, se tomó contacto en forma directa con la realidad y así se obtuvo información relacionada con los objetivos de la investigación.

Para el análisis de la infección por *T. cruzi* en caninos de manzanas positivas, fue previamente analizadas por el Servicio Nacional de Erradicación de la Malaria (SNEM), esquematizando las zonas positivas a la presencia del vector en los cantones de Playas Villamil y Posorja, se realizó un muestreo dirigido a caninos de estas zonas sometidos al estudio de investigación, ejecutando un Screening para la detección de anticuerpos anti- *T. cruzi*, con el kit de detección Trypanosoma Detect™ Rapid Test en dichas manzanas, que se utilizó para la detección y diagnóstico de la infección por *T. cruzi* en caninos, de acuerdo a las especificaciones del productor del kit.

El procedimiento se inició con la revisión de antecedentes y bases teóricas sobre la Enfermedad de Chagas en humanos y caninos, dichos antecedentes fueron proporcionados por el Servicio de Erradicación de la Malaria (SNEM), que esquematizó las zonas y manzanas positivas.

Previo a la visita del equipo de investigación, un grupo coordinado por el Dr. Ángel Guevara, MSc, Ph.D, Docente-investigador, Facultad de



Medicina, Centro de Biomedicina. Universidad Central del Ecuador, procedió a contactar al Dr. José Prado Garcés. Coordinador Nacional del Programa de Chagas. SNEM, Ministerio de Salud Pública, Dr. Leonardo Quinde, Entomólogo del Programa Nacional de Chagas. SNEM, Ministerio de Salud Pública. Sr. Manuel Espinoza Erique, Supervisor de la Brigada Recolección y Fumigación, para organizar los días de muestreo y las zonas a ser visitadas.

Basados en un croquis de las manzanas positivas y con un registro de visita, con la finalidad de determinar el número, tipo, y ubicación de las viviendas, así como el número de personas y caninos que habitaban en cada una de las mismas, se convocó casa por casa a los habitantes de las manzanas a ser muestreadas, comunicando el procedimiento del estudio y los objetivos del mismo, con el fin de obtener la colaboración de la población. La unidad de muestreo fue la vivienda.

Se realizó una encuesta epidemiológica a un representante o dueño del canino en análisis. A través de una hoja de identificación y la obtención de una muestra de sangre de caninos que habitan en la vivienda, con edades que oscilaron de 2 a 13 años, para posterior análisis del parásito en sangre.

Para tomar las muestras sanguíneas de caninos previa autorización del dueño, se colocó un bozal a los mismos, extrayendo de 5 -7 cm de sangre de la vena cefálica, las cuales fueron almacenadas y procesadas en laboratorios móviles improvisados en viviendas de las manzanas positivas. La finalidad fue la obtención de suero sanguíneo de las muestras tomadas, posteriormente se analizó en los laboratorios de la Unidad de Parasitología Molecular del Centro de Biomedicina de la Universidad Central del Ecuador.

El procesamiento consistió en la obtención e identificación del suero sanguíneo a través de una centrifuga a 2000 rpm, los sueros sanguíneos caninos fueron identificados y transportados, para su análisis a través del kit de detección Trypanosoma Detect™ Rapid, en los laboratorios del Centro de Biomedicina de la Universidad Central del Ecuador.

Adicionalmente, las muestras de sueros conservadas en refrigeración fueron enviadas al “Centro de Detección de Enfermedades en Atlanta” (CDC), Estados Unidos para ser evaluadas.

Del total de muestras enviadas al CDC de Atlanta (200), se seleccionaron 133 muestras a las que se les consideró aptas ya que, por problemas de transporte, fueron descartadas. Para el análisis, se aplicó la técnica inmunológica Ensayo por Inmunoabsorción Ligado a Enzimas (ELISA),

utilizando el kit Chagatest (ELISA recombinante v.3.0, Wiener lab), la técnica Inmunofluorescencia Indirecta (IFI) y el test rápido (In Bios), para la confirmación de los sueros de caninos. El análisis se realizó en el “Centro de Detección de Enfermedades en Atlanta”, Estados Unidos.

## POBLACIÓN Y MUESTRA

En la investigación se realizó un muestreo representativo que se ajustó a las características de la población total sometida a estudio. La población estuvo constituida por 200 caninos pertenecientes a los cantones de Playas y Posorja, comprendiendo 100 unidades de muestreo en Playas y 100 unidades de muestreo en Posorja, en caninos que comprendían edades de 2 a 13 años.

Previamente, dentro del Programa de erradicación del Mal de Chagas, se realizó un análisis de las zonas endémicas, donde se detectó la presencia de vectores, realizando un seguimiento de las casas de las manzanas positivas y viviendas aledañas, en las cuales se realizó el estudio epidemiológico para correlacionar la presencia del vector con la seropositividad del canino.

Se esquematizó a las manzanas positivas a través de croquis, teniendo como criterio la inclusión a caninos que habiten en dichas viviendas positivas seleccionadas a través de un muestreo dirigido.

Se realizó una encuesta socio epidemiológica a las personas que habitaban en el hogar, en las mencionadas viviendas residían los caninos, el objeto fue recoger información referente a la relación del canino como reservorio, factores predisponentes, conocimiento de la enfermedad, situación socioeconómica de sus habitantes, condiciones de la vivienda y presencia de animales dentro y fuera de la vivienda.

El muestreo para esta investigación epidemiológica es el muestreo probabilístico, tomando en cuenta que el estudio está limitado a un número específico de caninos de determinadas zonas, el tipo de muestreo realizado es el estudio dirigido experimental.

### COMPROBACIÓN DE LA HIPÓTESIS

La comprobación de la hipótesis a través de la significancia estadística, permite presentar resultados de la investigación, los cuales se realizaron a las muestras seleccionadas. Este proceso parte de un estudio estadístico de la muestra seleccionada para lo cual recurrimos a un análisis matemático y estadístico para la presentación y comprobación de

los resultados calculando el valor estadístico de la prueba, a través de cálculos necesarios como la sumatoria, porcentajes, media, prevalencia aparente y tabulación de los datos observados para computar valores que correspondan según los datos de la muestra.

A partir del análisis de los datos obtenidos, se toma la decisión de aceptar o rechazar la hipótesis.

## TÉCNICAS E INSTRUMENTOS DE LA INVESTIGACIÓN

En la investigación se utilizó la técnica de observación directa, enfocándonos en las manzanas positivas; dentro de este marco, se realizó una entrevista estructurada, dirigida a los habitantes de zonas positivas mediante la utilización de una hoja de identificación, dividida en dos partes, la primera constó con datos de ubicación de la vivienda, en la segunda parte, se caracterizó los aspectos físicos del domicilio y peridomicilio e identificación de los habitantes de la vivienda y caninos domiciliados. Por otro lado, se incluyó en esta investigación para apoyar los resultados, una encuesta a personas relacionadas al ámbito veterinario y médico, esquematizado con preguntas cerradas, con la finalidad de determinar el nivel de conocimiento de la enfermedad.

Finalmente, se utilizó como instrumento de observación, el registro de observación, los mapas o croquis para determinar la ubicación de las manzanas positivas y dentro de estos los barrios comprendidos en estas manzanas, se documentó las actividades a través de una cámara fotográfica fundamentando hechos más relevantes dentro de la presente investigación.

### *Protocolos de diagnóstico*

#### *ELISA*

La técnica ELISA emplea antígenos solubles de *Trypanosoma cruzi*, adheridos a soportes inertes (placa de microtitulación) y antiglobulinas humanas conjugadas con enzimas, como detectores de la reacción antígeno-anticuerpo.

Es un método de gran sensibilidad, pero cuya especialidad está sujeta a la calidad de los antígenos y reactivos empleados por lo que exigen una rigurosa estandarización y el protocolo fue desarrollado de acuerdo a las especificaciones del productor.

El kit empleado fue Chagatest (ELISA recombinante v.3.0, Wiener lab), el cual fue elaborado inicialmente para pruebas con sueros humanos, pero

que luego de extensas pruebas realizadas en la sección de Diagnóstico de la División de Enfermedades Parasitarias y Malaria de CDC, se comprobó que funciona con igual eficacia para sueros de perros, del mismo modo, el kit fue aplicado de acuerdo a las especificaciones del productor.

La reacción suele hacerse positiva después de 20 días de infección.

#### *Test Rápido (In Bios)*

El test rápido nos permite analizar infección por *Trypanosoma cruzi* mediante la detección de anticuerpos presentes en los sueros de caninos infectados con *T. cruzi*. La prueba consiste en colocar 20 ul de suero del canino analizado en la tira de prueba, posteriormente es colocada en aproximadamente 150 ul de Chase buffer y siguiendo las especificaciones del productor. Los resultados se observan dentro de 10 minutos. Para ser considerada una prueba positiva, en la tira se deben formar dos líneas, la primera que corresponde a la línea control, mientras que la segunda a la línea test. Si en el test no se observa la formación de la línea control, el resultado se considera inválido.

## VALIDEZ Y CONFIABILIDAD DE LOS INSTRUMENTOS

La validez de los instrumentos utilizados en la presente investigación a través de la observación directa, como la entrevista estructurada tiene gran confiabilidad dado a que se ha realizado desde hace algunos años, apoyando una variedad de investigaciones y obteniendo información real durante el estudio.

La encuesta realizada permite validar con gran certeza el estudio, dado que recoge información certera y real de la temática, además de la frecuente utilización para la obtención de datos en el momento de la investigación.

La utilización del croquis y el registro de observación miden realmente el indicador, correlacionando a la validez predictiva.

## TÉCNICAS DE PROCESAMIENTO Y ANÁLISIS DE DATOS

Para analizar los datos recolectados en la encuesta aplicada, así como los obtenidos de manera documental se tabuló los datos adquiridos y se diseñó esquemas gráficos para la interpretación de los resultados.



Se esquematizó la aplicación de la matriz de objetivos de muestreo, utilizando herramientas estadísticas descriptivas tales como la obtención de la media de respuestas del grupo sujeto a estudio y el análisis gráfico de cada una de las preguntas, donde se determinó el grado de correlación de las variables a analizar.

## CAPITULO IV

### RESULTADOS

#### PRESENTACIÓN DE RESULTADOS

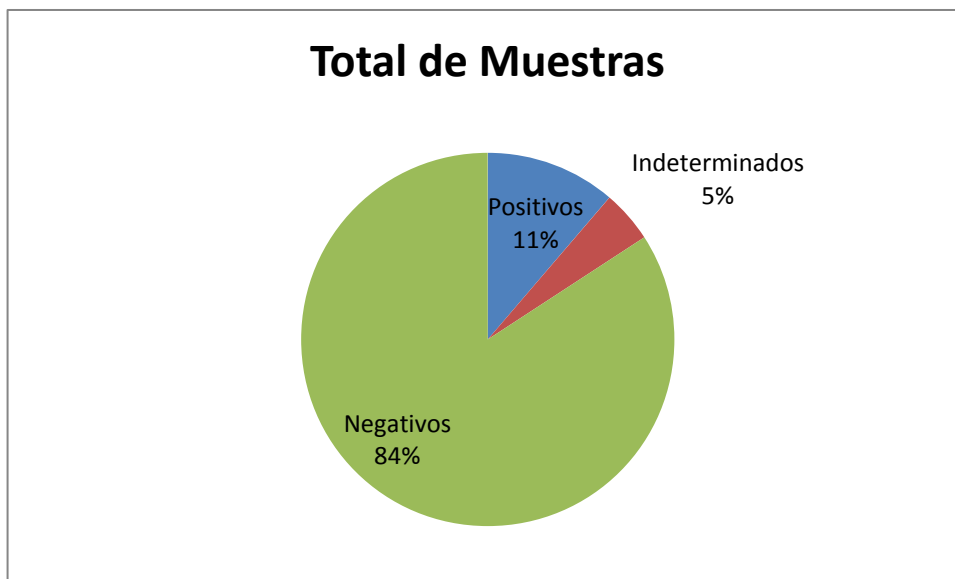
Se analizaron 200 muestras de caninos obtenidas de las cuales, 100 unidades de muestreo pertenecen al cantón Playas Villamil y 100 a Posorja. Las muestras analizadas por el kit Trypanosoma Detect™ Rapid Test en campo, evidenciaron que el 100% de sueros fueron negativos. Para confirmar los resultados se utilizó la técnica Elisa, desarrollada en el CDC de Atlanta-USA obteniendo un 11,3% (15/133), es decir el rol de los caninos es influyente en la transmisión de la enfermedad de chagas como barrera epidemiológica, correlacionado con niveles altísimos de infestación por el parásito en las zonas analizadas y la baja incidencia en la población humana, permitiendo dilucidar el objeto del estudio de la participación de caninos en la cadena de transmisión de la enfermedad.

Se destaca que el porcentaje de perros positivos en playas, fue mayor al existente en Posorja, dado a los factores ambientales y sociales que predisponen la aparición del vector. (Ver Cuadro 1).

De las 133 muestras analizadas, en el CDC de Atlanta, por la prueba de ELISA (Chagatest), permitió determinar que la Seroprevalencia de anticuerpos anti-*T. cruzi* en caninos domésticos de las localidades de Playas y Posorja fue de 11,28% (15 /133). Los valores superiores a 0.400 fueron considerados positivos, es decir 15 muestras; mientras que, muestras con valores entre 0.200 a 0.400 se clasificaron como indeterminados o sospechosos; el número de indeterminados fue 6 muestras, que corresponden al 4,51%.

De acuerdo a los resultados, por localidad, en Playas se obtuvo un porcentaje de muestras positivas (14,29%) mayor al alcanzado en Posorja (9,09) (ver Gráfico 2).

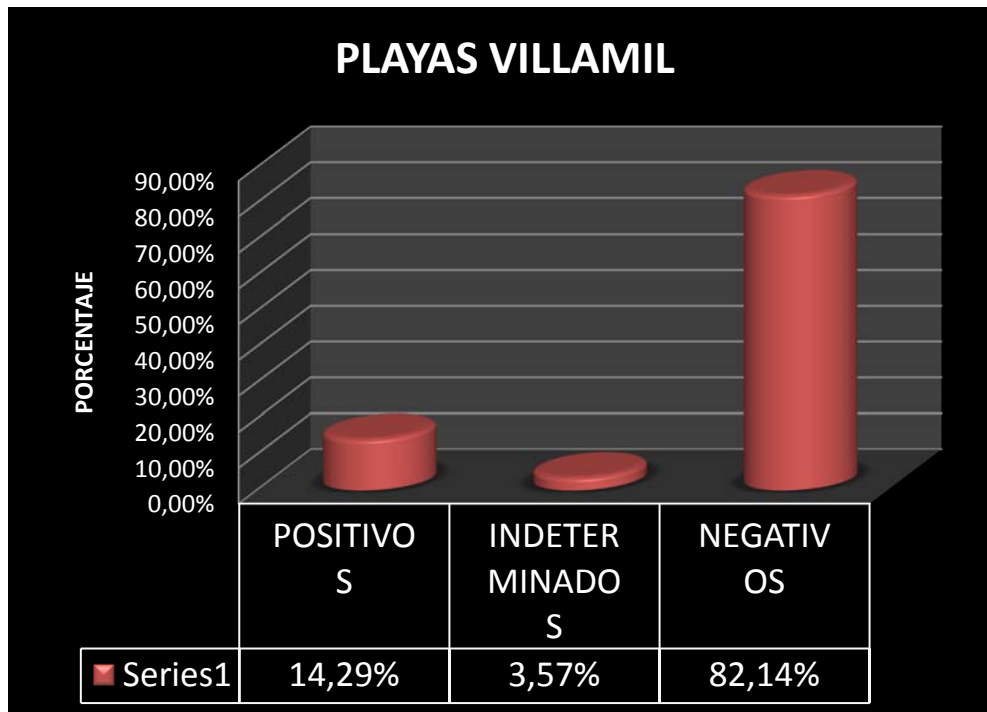
Adicionalmente, y como estudio complementario, utilizando la Inmunofluorecencia indirecta, se analizó las 21 muestras positivas o indeterminadas mediante ELISA, dando como resultado tan solo 4 muestras positivas que corresponden 3 muestras en Playas y 1 en Posorja. La muestra control utilizada (suero positivo de canino) fue obtenida de la sección de Diagnóstico de la División de Enfermedades Parasitarias y Malaria de “CDC”.



*Gráfico 6.* Resultados General Villamil Playas y Posorja.

Fuente: Investigación Directa

Elaboración: Los autores



*Gráfico 7.* Resultados de General Villamil Playas

Fuente: Investigación Directa

Elaboración: Los autores



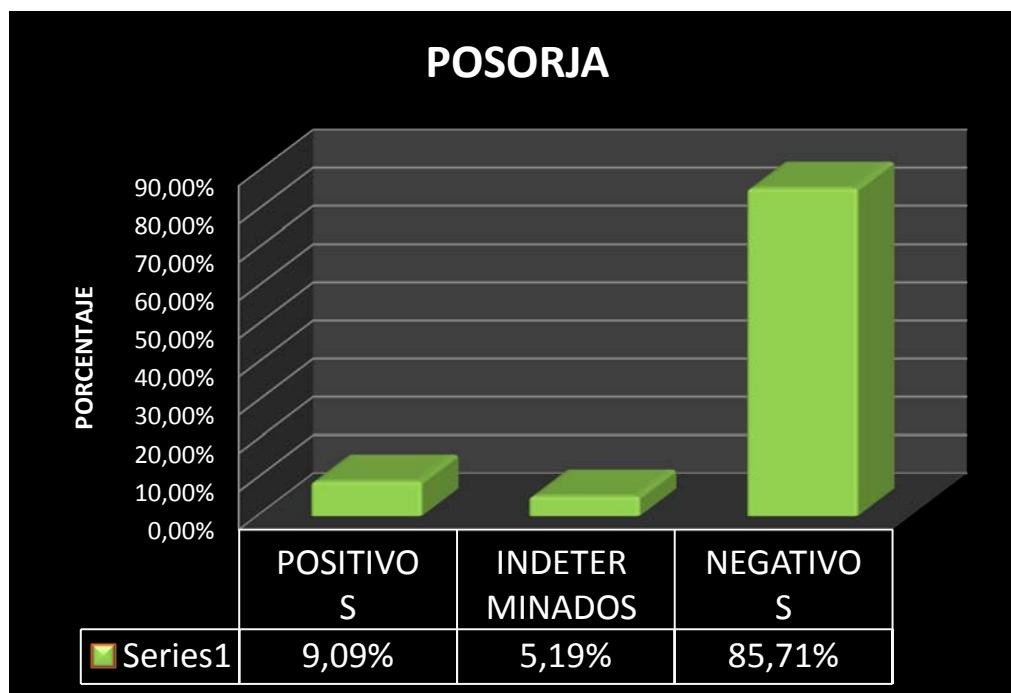


Gráfico 8. Resultados de Posorja

Fuente: Investigación Directa

Elaboración: Los autores

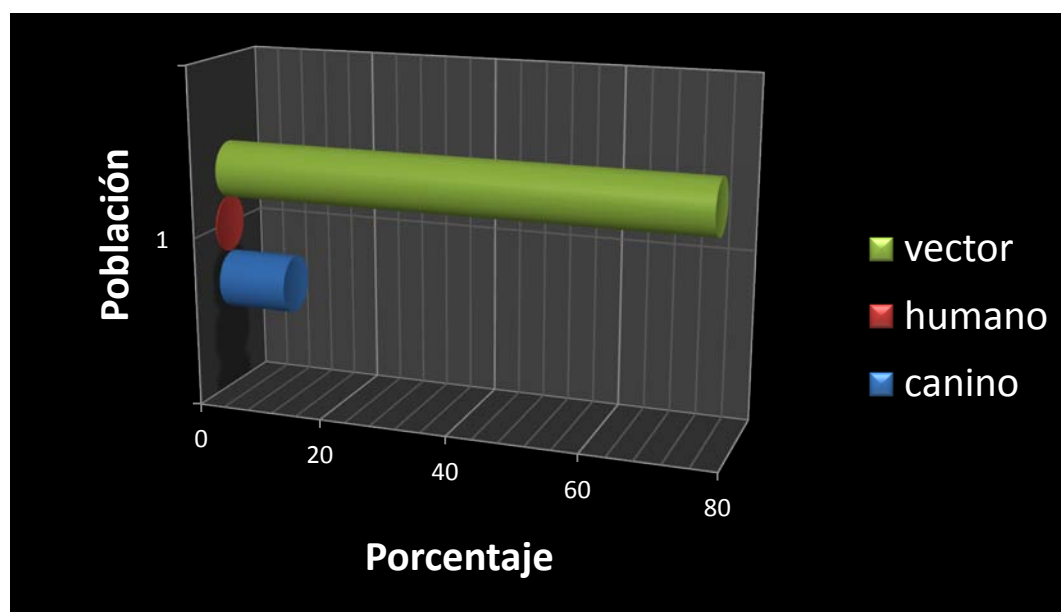


Gráfico 9. Comparación de Tasas de Infección en las diferentes especies

Fuente: Investigación Directa

Elaboración: Los autores

## ANÁLISIS E INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS

El presente estudio se llevó a cabo mediante la colaboración de varios organismos y personal involucrado apoyados por el Servicio Nacional de erradicación de la Malaria (SNEM) con el programa de control y erradicación de la Enfermedad de Chagas. Previamente, en el catón General Villamil Playas, se determinó que 0,38% de la población humana presentaba infección por *T. cruzi*. Del mismo modo, en un estudio paralelo (datos no publicados y ejecutados por el Centro de Biomedicina, 2012), se encontró la tasa de infestación de los vectores, a través del análisis coprológico, fue de alrededor de 77% del total de Triatóminos estudiados.

La Tripanosomiasis americana es una zoonosis en la que participan tanto reservorios peridomiciliares e intradomiciliares. El estudio de los caninos como reservorio es importante para determinar la presencia de *Trypanosoma cruzi* y el riesgo inmediato para las personas de contraer la enfermedad dado el contacto cercano con ellos y la facilidad de movilizarse de un lugar a otro.

Los caninos pueden actuar como reservorios activos y centinelas, tal como ha sido demostrado en Argentina en donde se ha reportado un 41% de caninos infectados (Reyes, 2002). En Costa Rica se demostró una

positividad de zonas endémicas de 5,2% mientras que en zonas no endémicas fue de 1,6%. En perros callejeros el porcentaje de positividad fue de 12% independiente de si fueron capturados en zonas endémicas o no endémicas (Reyes, 2002).

El presente trabajo demuestra un 11,3% de seroprevalencia en caninos de zonas endémicas “Playas Villamil y Posorja”, en donde se puede observar que en la localidad de Playas el porcentaje de muestras positivas (14,29%) es mayor al alcanzado en Posorja (9,09%), confirmando la participación del canino como reservorio en la cadena de transmisión de la “Enfermedad de Chagas”.

La baja incidencia en la población humana para la infección por *T. cruzi*, a pesar de que el vector principal (*Triatoma dimidiata*) en Ecuador, se encuentra en esta zona tanto en la parte domiciliar como peri domiciliar y presentando niveles altísimos de infestación por el parásito nos da indicios de que existen otros reservorios silvestres o barreras naturales que de cierta forma están siendo utilizados como huéspedes primarios del vector para la transmisión y hasta el momento no ha llegado a sobrepasar esta barrera, y al analizar la incidencia de caninos positivos a la enfermedad se confirma que el canino está cumpliendo un rol importante como barrera epidemiológica si se compara los porcentajes respectivos de seropositividad, trabajando junto a la fauna autóctona, ya que en



lugares donde se encontró el insecto vector de igual manera se encontraron animales como zorros (*D. marsupialis*) que presentaron infección por *T. cruzi*.

Podemos esquematizar la relación epidemiológica que existe entre el vector, su reservorio y el hombre, exaltando la participación que realiza el canino en la transmisión de la Enfermedad de Chagas, en la investigación realizada.

A continuación se detalla mediante un esquema gráfico las manzanas positivas a la presencia del vector, los caninos positivos en dichas manzanas y los vectores positivos que resultaron de la investigación (Ver gráfico 4 y 5).

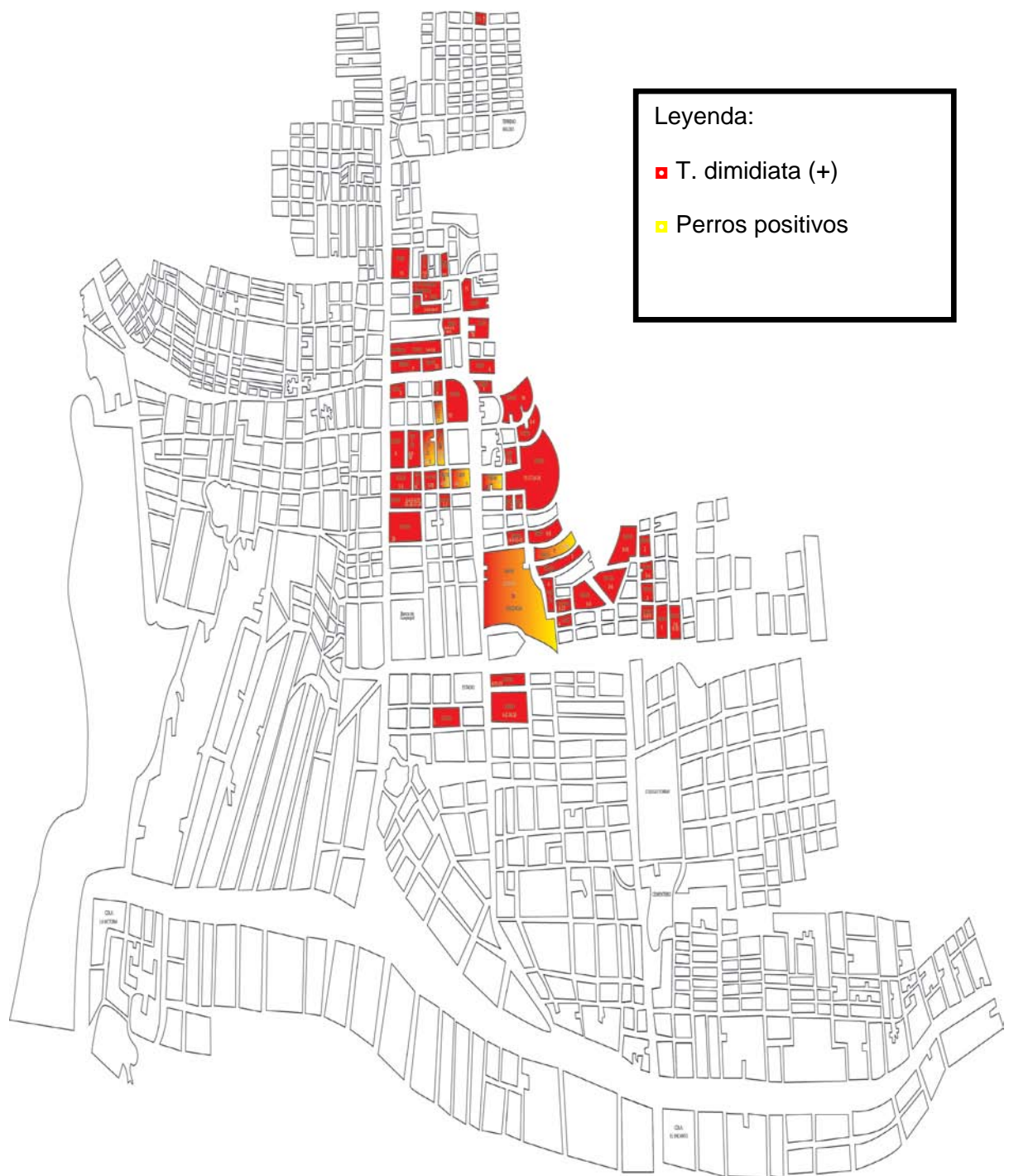


Grafico 10. Resultados de General Villamil Playas (Croquis)

Fuente: Investigación directa

Elaborado: Los autores.

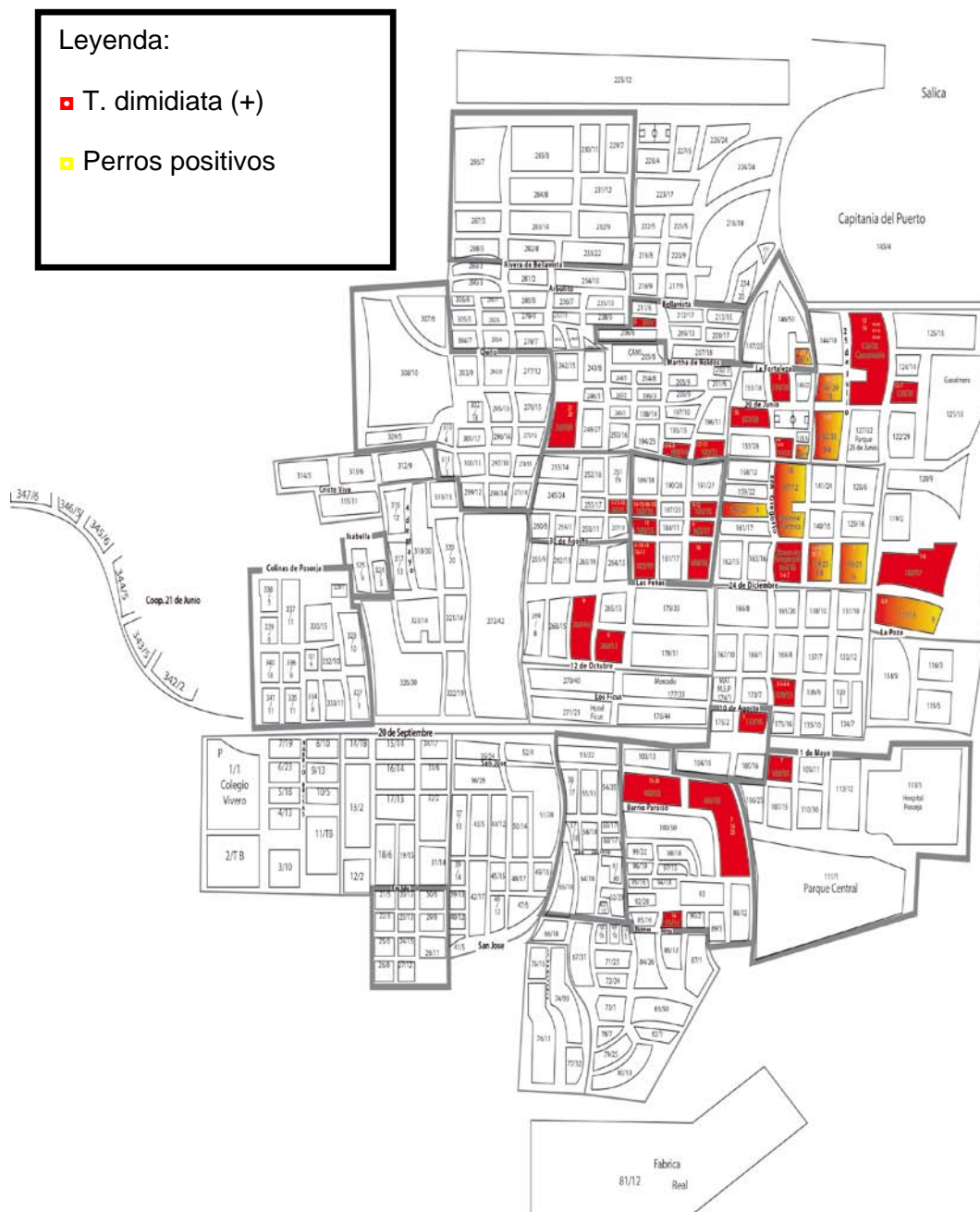


Gráfico 11. Resultados de Posorja

Fuente: Investigación directa

Elaborado: Los autores.

Si comparamos los datos de investigaciones realizadas en países Sudamericanos podemos observar que la incidencia de la enfermedad en reservorios caninos es similar y se confirma la importancia del perro en la epidemiología de la enfermedad al actuar como barrera epidemiológica en zonas comprometidas del Ecuador, cuando se determinó y cuantificó la presencia de anticuerpos anti-*T. cruzi*. Al combinar diferentes técnicas de laboratorio se aumenta la confiabilidad de los resultados, confirmando de esta manera los resultados y eliminando los falsos positivos y negativos, así sabemos que la inclusión de pruebas de detecciónón rápida no solo se debe utilizar en estudios epidemiológicos ya que su eficacia no es altamente confiable.

Los hogares de bajos recursos representan un buen ecotopo en el cual se favorece el desarrollo de *T. dimidiata*. Por otro lado, casas mejor construidas pueden ser objetivos de los insectos adultos al ser atraídas por las luces, sin llegar a favorecer la creación de nidos. En ambas situaciones los perros tienen una buena oportunidad de tener contacto directo con los vectores, particularmente las formas adultas, estimulando la curiosidad del perro lo que produce que agarren a los insectos con su boca.

Los caninos pueden infestarse de la misma forma que los humanos, las mismas vías de contagio que se explicaron anteriormente, aún así no se

le ha dado importancia a estas vías. De manera experimental estas rutas han sido utilizadas efectivamente, indicando que algunos animales de forma natural, tienen facilidad para contagiarse vía oral y este mecanismo debe ser considerado epidemiológicamente (Zeledón, 1977).

El análisis de las muestras de caninos de Playas y Posorja, a través del el kit Trypanosoma Detect™ Rapid Test, realizado en los laboratorios de Biomedicina de la Universidad Central del Ecuador, reflejaron resultados de 100% de negatividad, se puede deducir que los resultados obtenidos probablemente fueron influidos por la manipulación del kit aplicado a las muestras, incluso se puede argumentar que existió un error al manejo un kit durante el procesamiento, lo cual dió los resultados que podrían reflejar valores incorrectos. Adicionalmente, no se puede descartar que, la manipulación del kit, la eficiencia del laboratorista y la calidad de los materiales y equipos también pudieron influir en la negatividad de los resultados.

Al comparar los resultados obtenidos a través del kit Trypanosoma Detect™ Rapid Test aplicado en el Centro de Biomedicina de la Universidad Central del Ecuador, con el mismo Test Rápido (In Bios) utilizado en el “Centro de Detección de Enfermedades en Atlanta”, Estados Unidos, en donde se analizó con 21 muestras positivas o

indeterminadas a Elisa, obteniendo 3 muestras positivas al Test, es decir existió resultados erróneos con el kit aplicado en Ecuador.

## CAPITULO V

### CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

#### CONCLUSIONES

En la zona de estudio se encontró el 11.3% de seroprevalencia de anticuerpos de *Trypanosoma cruzi*, datos que nos permite concluir que los caninos, al constituirse en reservorios de la enfermedad, desempeñan un rol importante en la cadena epidemiológica al constituir una probable barrera natural, disminuyendo la prevalencia de la enfermedad en humanos, presentando una mayor exposición que desarrolla la enfermedad con mayor intensidad que los humanos.

La dinámica de transmisión de la Enfermedad de Chagas, presenta una alta relación epidemiológica can-humano, dado a la característica innata del canino de tener un estrecho contacto con el humano, movilizándose con facilidad, no confinándose únicamente en una vivienda.

## RECOMENDACIONES

Desarrollo de programas de control y erradicación de la Enfermedad de Chagas, incluyendo a los caninos como actores importantes en la cadena de transmisión de la enfermedad.

En un esfuerzo por controlar y erradicar la Enfermedades de Chagas, se debe promover más estudios similares, con la intervención de todos los entes involucrados, formando un equipo de trabajo que incluye a varios campos profesionales, que aportan información valiosa que favorece el éxito y cumplimiento de los objetivos propuestos.



## CAPITULO VI

## REFERENCIAS

Abad-Franch F., Aguilar M. Control de la enfermedad de Chagas en el Ecuador, OPS/OMS, Quito, Ecuador, (2003)

Abad-Franch, F., Aguilar, M. Control de la Enfermedad de Chagas en el Ecuador. Datos y Reflexiones para una Política de Estado. Revista del Instituto Juan César García Pág.: 12-32. 2000.

Abad-Franch, F., Paucar, C., Carpio, C., Cuba, C., Aguilar, M., Miles, M. Biogeography of Triatominae (Hemiptera: Reduviidae) in Ecuador: Implications for the design control strategies. Memórias do Instituto Oswaldo Cruz 96: 611-620. 2001

Abad-Franch F, 2002. The ecology and genetics of Chagas disease vectors in Ecuador, with emphasis on *Rhodnius ecuatoriensis* (Triatominae). Phd Thesis, Department of Infectious and Tropical Diseases, London School of Hygiene and Tropical Medicine, Universidad de Londres, Reino Unido, 411 pp.

Aguilar V, Unidad de Proyectos de Investigación, Instituto Nacional de Higiene y Medicina Tropical 'Leopoldo Izquieta Pérez' – Zona Norte, Ministerio de Salud Pública del Ecuador, Quito, Ecuador. 2000.

Alvarado-Otegui J.A. El ciclo de transmisión de *Trypanosoma cruzi* en mamíferos silvestres en una zona rural del Chaco húmedo. Seminario de Licenciatura FCEN-UBA. 46 pág. 2009.

Bacigalupo B.A., Segura M.J.A., García C.A., Hidalgo C.J., Galuppo G.S., Cattán P.E. Primer hallazgo de vectores de la enfermedad de Chagas asociados a matorrales silvestres en la Región Metropolitana, Chile. Revista Médica de Chile. 134: 1230-1236. 2006.

Bargues M.D., Klisiowicz D.R., Panzera F., Noireau F., Marcilla A., Perez R., Rojas M.G., O'Connor J.E., Gonzalez-Candelas F., Galvao C. Origin and phylogeography of the Chagas disease main vector *Triatoma infestans* based on nuclear rDNA sequences and genome size. Infection, Genetics and Evolution: Journal of Molecular Epidemiology and Evolutionary Genetics in Infectious Diseases. 6: 46-62. 2006.

Burgos J.M., Altcheh J., Bisio M., Duffy T., Valadares H.M., Seidenstein M.E., Piccinali R., Freitas J.M., Levin M.J., Macchi L., Macedo A.M., Freilij H., Schijman A.G. Direct molecular profiling of minicircle signatures and lineages of *Trypanosoma cruzi* bloodstream populations causing

congenital Chagas disease. *International Journal for Parasitology*. 37: 1319-1327. 2007.

Burgos J.M., Begher S., Valadares Silva H.M., Bisio M., Duffy T., Levin M.J., Macedo A.M., Schijman A.G. Case Report: Molecular Identification of *Trypanosoma cruzi*. Tropism for Central Nervous System in Chagas Reactivation Due to AIDS. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*. 78(2): 294-297. 2008.

Cáceres A, Troyes L, Gonzáles A, Llontop E, Bonilla C, Murias E, Heredia N, Velásquez C, Yáñez C. Enfermedad de Chagas en la región nororiental del Perú. I. Triatominos (Hemiptera, Reduviidae) presentes en Cajamarca y Amazonas. *Red Peru Med Exp Salud Pública*. Pág. 19; 17-23. 2002.

Cardinal M.V. Eco-epidemiología de los ciclos de transmisión de *Trypanosoma cruzi* en el noroeste de argentina. Tesis de Doctorado. FCEN-UBA. 143 pág. 2008.

Cardinal M.V., Castañera M.B., Lauricella M.A., Cecere M.C., Ceballos L.A., Vazquez-Prokopec G.M., Kitron U., Gürtler R.E. A prospective study of the effects of sustained vector surveillance on *Trypanosoma cruzi* infection of dogs and cats in rural northwestern Argentina. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*. 75: 753-761. 2006.

Cardinal M.V., Lauricella M.A., Marcet P.L., Orozco M.M., Kitron U., Gürtler R.E. Impact of community-based vector control on house infestation and *Trypanosoma cruzi* infection in *Triatoma infestans*, dogs and cats in the Argentine Chaco. *Acta Tropica*. 103: 201-211. 2007.

Cardinal M.V., Lauricella M.A., Ceballos L.A., Lanati L., Marcet P.L., Levin M.J., Kitron U., Gürtler R.E., Schijman A.G. Molecular epidemiology of domestic and sylvatic *Trypanosoma cruzi* infection in rural northwestern Argentina. *International Journal for Parasitology*. 3: 1533-1543. 2008.

Garzon EA, Bamabe C, Cordova X, Bowen C, Paredes W, Gomez E, Ouiaissi A, Tibayrenc M, Guevara AG. *Trypanosoma cruzi* isoenzyme variability in Ecuador: first observation of zymodeme III genotypes in chronic chagasic patients. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, 96, 378-382. 2002.

Grijalva MJ, Escalante L, Paredes RA, Costales JA, Padilla A, Rowland EC, Aguilar HM, Racines J. Seroprevalence and risk factors for *Trypanosoma cruzi* infection in the Amazon region of Ecuador. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene* 69: 380-385. 2003

Guevara, AG. Enfermedad de Chagas en Ecuador. *Informe al FUNDACYT*, proyecto Fundacyt-BID 422. Gürtler R.E. 2009. Sustainability of vector control strategies in the Gran Chaco Region: current challenges and

possible approaches. Memórias do Instituto Oswaldo Cruz. 104 (Suppl. I): 52-59. 2001.

Manual de mantenimiento para equipos de laboratorio. Organización Panamericana de la Salud, Washington DC, 2005.

Manzardo C, Trevino B, Gomez. Prat J, et al. Communicable diseases in the immigrant population attended to in a tropical medicine unit: epidemiological aspects and public health issues. Travel Med Infect Dis. Jan-Mar 2008; 6:4-11.

Montiel, G; Díaz, G, Respuesta inmune de las células del hospedero a la infección por *Trypanosoma cruzi*, Revista Médica del Hospital Nacional de Niños ISSN 1017-8546 *versión impresa*, Rev. méd. Hosp. Nac. Niños (Costa Rica) v.37 n.1-2 San José 2002.

Telleria J., Lafay B., Virreira M., Barnabé C., Tibayrenc M., Svoboda M. *Trypanosoma cruzi*. Sequence analysis of the variable region of kinetoplast minicircles. Experimental Parasitology. 45: 221-229. 2006.

Marin-Neto JA, Rassi A, Jr., Morillo CA, et al. Rationale and design of a randomized placebo-controlled trial assessing the effects of etiologic treatment in Chagas' cardiomyopathy: the Benznidazole Evaluation For Interrupting Trypanosomiasis (BENEFIT). Am Heart J. Jul 2008;156:37-43.

Noireau N., Diosque P., Jansen A.M. 2009. *Trypanosoma cruzi*: adaptation to its vectors and its hosts. Veterinary Research. 40: 26.

OMS. Reporte sobre la enfermedad de Chagas. 17–20 de abril de 2005. Actualizado en julio de 2007. Buenos Aires, Argentina. [www.who.int/tdr](http://www.who.int/tdr); 2007.

Piccinalli R.V., Marcet P.L., Noireau F., Kitron U., Gürtler R.E., Dotson E.M. Molecular population genetics and phylogeography of the Chagas disease vector *Triatoma infestans* in South America. Journal of Medical Entomology. 46: 796-809. 2009.

Redacción Latino. Chagas: la enfermedad silenciosa. Periódico Latino, 22 Feb 2008; 7. Disponible en:  
<<http://www.latinomadrid.com/pdf/149/latino149.pdf>>

Schofield C.J., Jannin J., Salvatella R. The future of Chagas disease control. Trends in Parasitology. 12: 583-588. 2006.

Special Programme for Research and Training in Tropical Diseases (TDR).Chagas Disease. Consultado 13 diciembre 2008. Disponible en:  
<<http://www.who.int/tdr/svc/diseases/chagas>.

Vázquez-Prokopec G.M., Cecere M.C., Kitron U., Gürtler R.E. Environmental and demographic factors determining the spatial distribution of *Triatoma guasayana* in peridomestic and semi-sylvatic habitats of rural northwestern Argentina. Medical and Veterinary Entomology. 22: 273-282. 2008.

Vázquez-Prokopec G.M., Cecere M.C., Kitron U., Gürtler R.E. Environmental and demographic factors determining the spatial distribution of *Triatoma guasayana* in peridomestic and semi-sylvatic habitats of rural northwestern Argentina. Medical and Veterinary Entomology. 22: 273-282. 2008.

World Health Organization (WHO). World Health Report: Changing History, World Health Organization. Geneva, pag. 1-96. 2004.

World Health Organization (WHO). New global effort to eliminate Chagas disease. Partners set out strategy against the 'kissing bug' disease. 2007.

## ANEXOS

## Cuadro 1

## Muestras positivas del cantón “Playas Villamil”.

Muestras Positivas Localidad Playas Villamil										
Cod	Local.	Barrio	Direccion	Apellido	Nombre	#	Nombre	Sexo	Edad	R
2	Playas	San Antonio	Mz 119 C 18	Massini	Aida	6	Luz	Hembra	2 años	-
3	Playas	San Antonio	Mz 119 C 18	Massini	Aida	6	Goofy	Hembra	5 años	-
5	Playas	San Antonio	Mz 119 C 18	Massini	Aida	6	Maky	Macho	6 meses	-
14 A	Playas	Santa Isabel	Mz 168 C 34	Geyual	Eduardo	1	BODY	MACHO	6 AÑOS	-
15	Playas	San Antonio	Mz 120 C 11	Yagual	Sandra		Princesa	Hembra	1 año	-
15 A	Playas	Santa Isabel	Mz 169 C 9	Quinde	Liseth	9	Yanbal	Hembra	5 años	-
28	Playas	BARRIO LINDO	Mz 136	Tomala	Ruben	5	GORDA	HEMBRA	6 AÑOS	-
74	Playas	Lindo	Mz 138 C 5	Cruz	Pedro	8	Tilingo	Macho	2 años	-
76	Playas	La Dolorosa	Mz 124 C 20	Tigrero	Fernando	4	Salud	Hembra	1 año	-
78	Playas	La Planta	Mz 140 C 24	Bohorquez	Pedro	8	Bethoveen	Macho	4 meses	-

Muestras Positivas Localidad Posorja										
6	Posorja	La poza	Mz 117, C 9	Quinde	Yuri	8	Katira	Hembra	2 años	-
10	Posorja	San francisco	Mz 130 C 11	Gonzabay	Anastasia	8	Pituza	Hembra	3 años	-
22	Posorja	La represa	Mz 160 C 3	Sanchez	Alfarina	4	Oreja	Macho	10 meses	-
28	Posorja	25 de Julio	Mz 156 C 6	Morcilla santa cruz	Maria del Carmen	3	Pastor	Macho	1 año	-
32	Posorja	25 de Julio	Mz 142 C 6	Rambai	Rosa	6	Lassie	Hembra	10 años	-
44	Posorja	20 de Junio	Mz 148 C 7	Bolon	Manuel	5	Bolomba	Hembra	8 años	-
60	Posorja	San Francisco	Mz 139 C 2	Gonzabay	Alberto	6	Bobito	Macho	1 año 3 meses	-
63	Posorja	San Francisco	Mz 139 C 8	Jordan	Cristobal	12	Boby	Macho	2 años	-
74	Posorja	San Francisco	Mz 157 C 16	Chele	Oswaldo	6	Ranger	Macho	3 años 1/2	-
90	Posorja	25 de Julio	Mz 142 C 3	Rodriguez	Alcira	5	Oso	Macho	3 años	-
99	Posorja	25 de julio	Mz 143, C 19	Mera medina	Jesus	4	Toby	Macho	1 año	-

Fuente: Investigación Directa

Elaboración: Los Autores